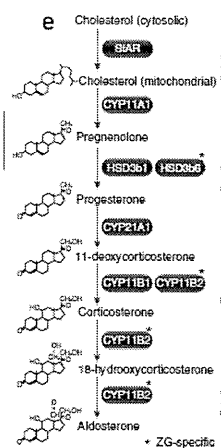
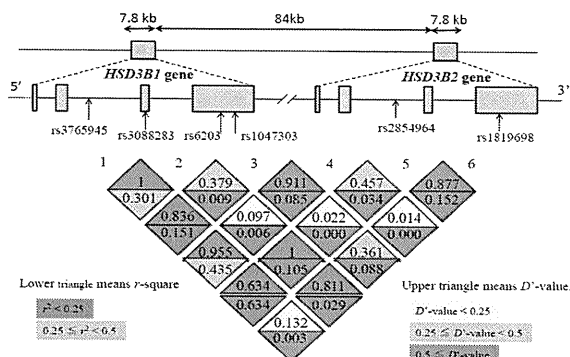


アルドステロン症関連遺伝子解析のStrategy



Tag SNPs



アルドステロン症関連遺伝子解析のStrategy (案)

HSD3B1: promoterからできればcoding, non-coding全領域の sequence
→ 低頻度のmutation, 高頻度の多型の同定

GWAS

研究協力者: 国立循環器病研究センター 研究所
宮田敏行先生、花田裕典先生

同定されたmutation, polymorphismをTaqMan法にてgenotyping

PA (APA, IHA)とnon-PA EHT (with or without low renin, high aldosterone) との関連解析, haplotype解析

Genotypeと血中aldosterone濃度やrenin活性、ARRとの相関 (intermediate phenotypes)

APA手術症例におけるGenotypeと組織所見との関連性

アルドステロン症関連遺伝子解析のStrategy (案)

解析症例: Case- PA (APA, IHA), EHT (ARR \geq 200)
Control- EHT (ARR $<$ 200)

Case (PA):

阪大- 50例 国循- 50例 神戸大- ?例

京都医療センター- ?例 (成瀬先生)

合計(PA) 100例以上

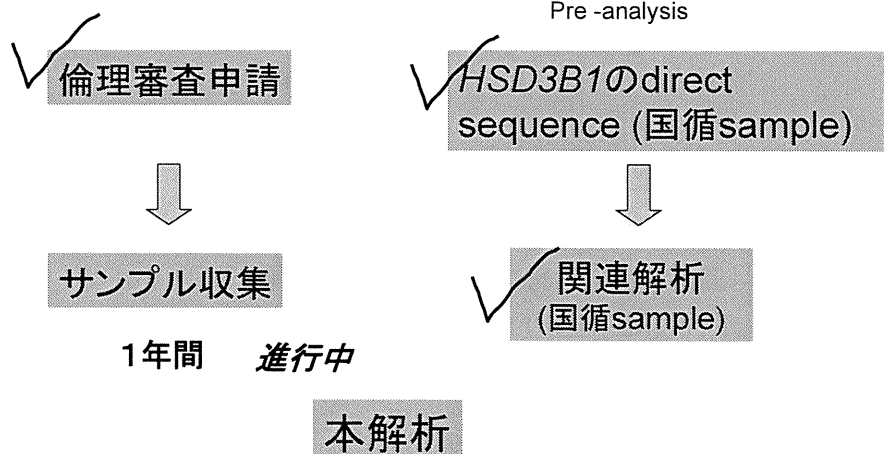
Control:

阪大, 国循

合計 200例以上

アルドステロン症関連遺伝子解析のStrategy

今後の方針



PA遺伝素因の解明（阪大）

遺伝子採血： 20ml DNA, RNA(PAXGENE), 残余血漿

手術症例(APA, 一部にIHA):

平成23年度に手術例-

術中摘出副腎から得た腫瘍組織、正常組織
未染色標本

平成23年度以前に手術例-未染色標本

研究協力： 泌尿器科－ 宮川 康先生

病理部－ 池田純一郎先生

内分泌・代謝内科－ 大月道夫先生

PA遺伝素因の解明（阪大）

-12/22/11現在 17例-

平均年齢(歳)	56.9±14.7
男性, n (%)	8 (47.1)
BMI(kg/m ²)	23.1±3.5
APA, n (%)	12 (70.6)
Ope, n (%)	12 (70.6)
組織標本あり, n (%)	6 (35.3)
SBP/DBP(mmHg)	145.5±16.6/86.0±8.9
血清K濃度(mEq/l)	3.6±0.5
PRA(ng/ml/hr)	0.3±0.3
PAC(pg/ml)	294.0±170.5
ARR	1801±1446

※血圧は手術前の外来時、IHAの場合は現在の数値、採血項目は負荷試験時

アルドステロン症関連遺伝子解析の現況

K⁺ Channel Mutations in Adrenal Aldosterone-Producing Adenomas and Hereditary Hypertension

Murim Choi,¹ Ute I. Scholl,¹ Peng Yue,^{2*} Peyman Björklund,^{3,4*} Bixiao Zhao,^{1*} Carol Nelson-Williams,¹ Weizhen Ji,¹ Yoonsang Cho,⁵ Aniruddh Patel,¹ Clara J. Men,¹ Elias Lotis,⁵ Max V. Wisgerhof,⁶ David S. Geller,⁷ Shrikant Mane,⁸ Per Hellman,⁴ Gunnar Westin,⁴ Göran Åkerström,⁴ Wenhui Wang,² Tobias Carling,³ Richard P. Lifton^{1†}

Endocrine tumors such as aldosterone-producing adrenal adenomas (APAs), a cause of severe hypertension, feature constitutive hormone production and unrestrained cell proliferation; the mechanisms linking these events are unknown. We identify two recurrent somatic mutations in and near the selectivity filter of the potassium (K⁺) channel *KCNJ5* that are present in 8 of 22 human APAs studied. Both produce increased sodium (Na⁺) conductance and cell depolarization, which in adrenal glomerulosa cells produces calcium (Ca²⁺) entry, the signal for aldosterone production and cell proliferation. Similarly, we identify an inherited *KCNJ5* mutation that produces increased Na⁺ conductance in a Mendelian form of severe aldosteronism and massive bilateral adrenal hyperplasia. These findings explain pathogenesis in a subset of patients with severe hypertension and implicate loss of K⁺ channel selectivity in constitutive cell proliferation and hormone production.

11 FEBRUARY 2011 VOL 331 SCIENCE www.sciencemag.org

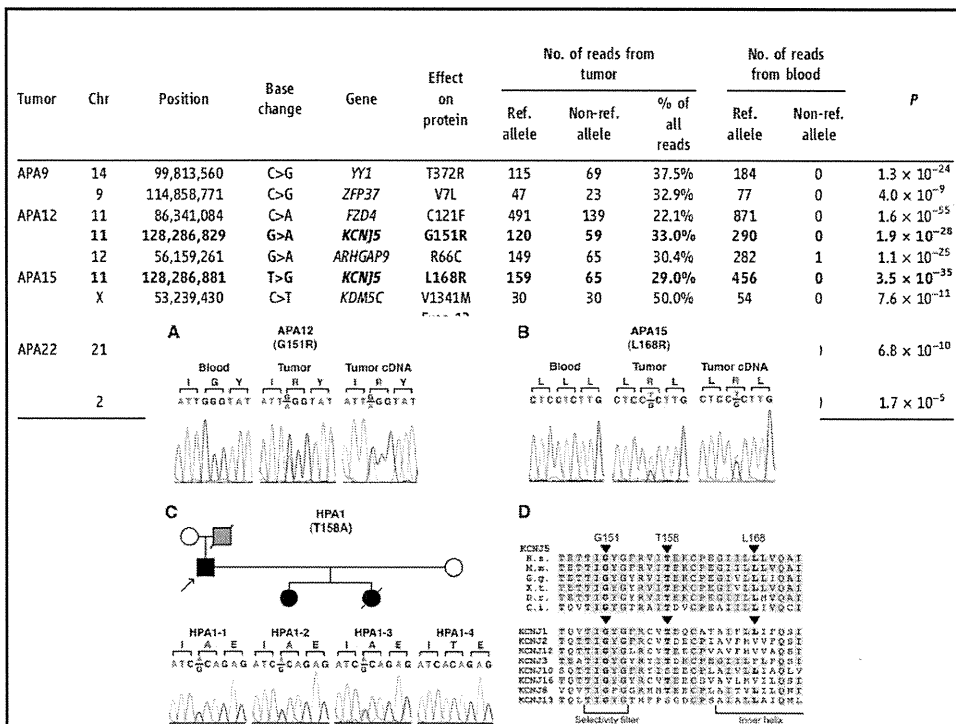
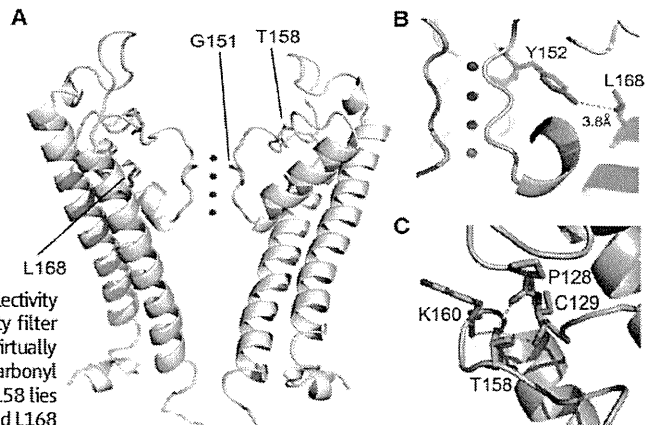


Fig. 2. Location of human mutations in KCNJ5 mapped onto the crystal structure of chicken K⁺ channel KCNJ12 (16). (A) Location of mutations. The extracellular and transmembrane domains of two subunits from the channel tetramer are shown with K⁺ ions (purple) traversing the selectivity filter; human KCNJ5 and chicken KCNJ12 are 89% identical in the pore helix and selectivity filter. G151 lies in the selectivity filter at a position conserved among virtually all K⁺ channels. Its main chain carbonyl group faces the channel pore. T158 lies just above the selectivity filter, and L168 is in the second transmembrane domain (inner helix) with its side chain projecting toward the selectivity filter. (B) View of the side chains of L168 and the highly conserved Y152 of the selectivity filter, showing their close proximity. (C) View of T158, which makes hydrogen bonds with conserved positions P128 and C129.



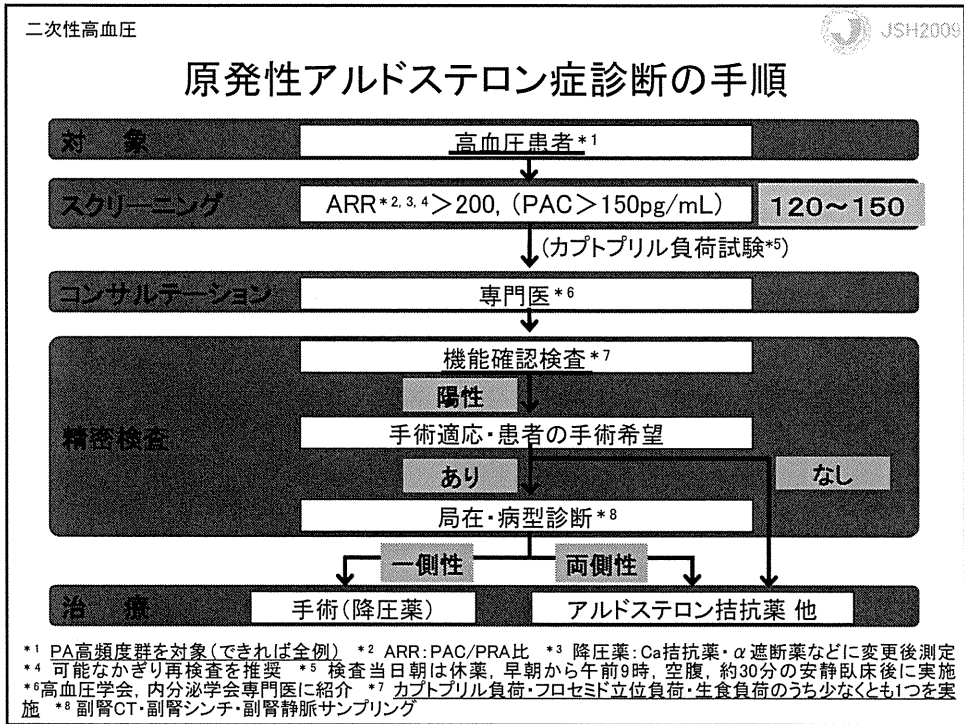
11 FEBRUARY 2011 VOL 331 SCIENCE www.sciencemag.org

アルドステロン症関連遺伝子解析のStrategy (案)

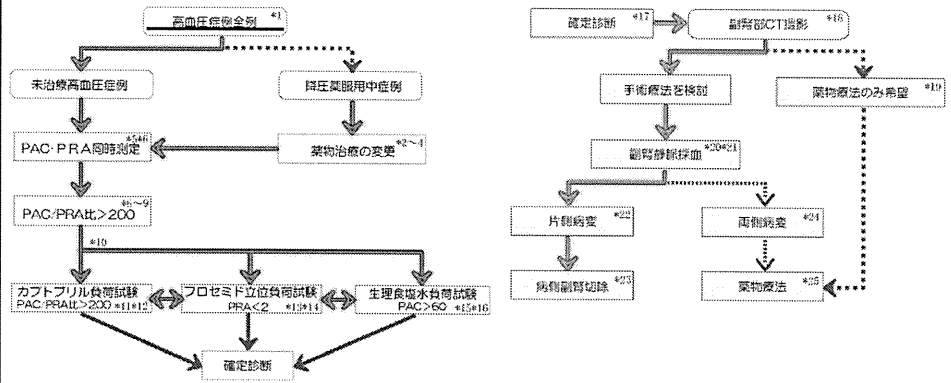
- ・KCNJ5 G151R, T158A, L168R Genotyping
- ・KCNJ5 Sequence
- ・KCNJ5 APA組織と正常組織での発現の比較
- ・KCNJ5 とHSD3B1や時計遺伝子との関連性？

原発性アルドステロン症の 診療ガイドラインの意義と課題

各種負荷試験での診断率の比較



日本内分泌学会
 原発性アルドステロン症の診断治療ガイドライン-2009-



ARRが高値の場合は、副腎静脈採血による病型分類の前に、3つの確認検査(カプトプリル負荷試験、フロセミド立位負荷試験、生理食塩水負荷試験)の内2種以上の検査を行い、確定診断を行うことを推奨する(上図)。なお、これらの検査は原則として専門医療機関で行う。

二次性高血圧



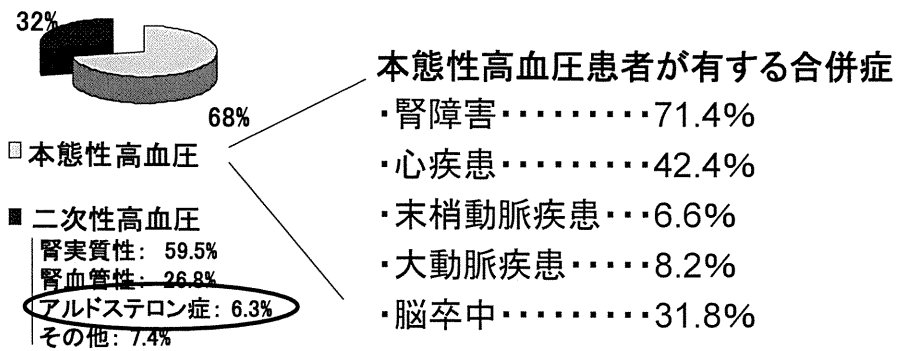
原発性アルドステロン症を疑い
 積極的にスクリーニング検査をすべき対象

- ・低K血症(利尿薬誘発性も含む)
- ・Ⅱ度以上の高血圧(収縮期血圧>160mmHg
 または拡張期血圧100mmHg)
- ・コントロール不良および治療抵抗性高血圧
- ・高血圧を伴う副腎偶発腫瘍
- ・40歳以下で脳血管障害などの臓器障害合併例

一般医家・専門医ともにすべての高血圧患者を
 スクリーニング対象 (JES)

国立循環器病研究センター高血圧腎臓内科 に入院した患者について

(2003年4月－2004年11月の間に入院した547名について)

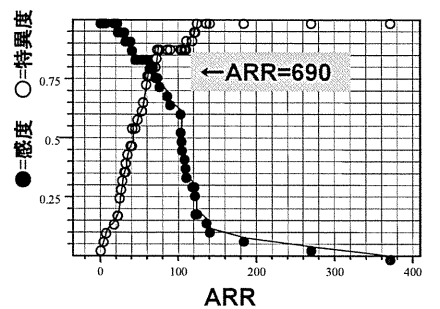
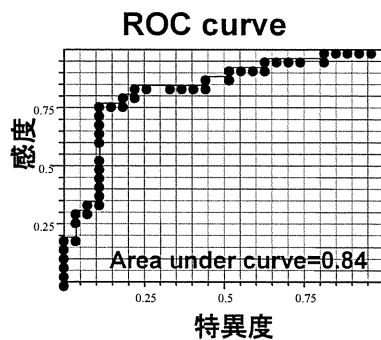


NCVC高血圧腎臓内科入院患者中 約2%

外来でPAをスクリーニングするために

ARR (aldosterone renin ratio: PAC/PRA)

ARR \geq 690は降圧薬内服下、座位採血でも
感度81%,特異度82%,positive predictive value81%



Niizuma S, et al. *Clin Exp Hypertens* 2008

大阪大学老年・高血圧内科 PA診断・治療のアルゴリズム

(原発性アルドステロン症診療マニュアル改訂第2版)

外来でのスクリーニング

未治療高血圧、低カリウム血症を伴う高血圧、若年性高血圧、
治療抵抗性高血圧、副腎に腫瘍像のある高血圧など



高血圧未治療の場合: PRA, PAC (ARR) 測定(原則、安静座位15分以上、
午前、空腹時採血)
血清電解質、腎機能

降圧薬内服中の場合: できるだけPRA, PACに影響を及ぼす薬剤*を2週間
以上休薬の上、PRA, PAC (ARR)測定。
降圧薬休止によって血圧上昇が危惧される場合は
CCBに変更もしくは増量、 α 遮断薬を使用。
ただし重症高血圧で降圧薬休止によって急激な血圧
上昇が予測される場合にはRA系阻害薬を投与した状態
でARRを測定する。

*ACEI, ARB, β 遮断薬、サイアザイド・ループ利尿薬、アルドステロン拮抗薬

大阪大学老年・高血圧内科 PA診断・治療のアルゴリズム

(原発性アルドステロン症診療マニュアル改訂第2版)



ARR > 200であればスクリーニング陽性
(PAC > 150pg/mlを参考にする)

・ARR < 200、臨床的にPAの可能性が
低ければ経過観察
・臨床的にPAが疑わしければARR再検

短期検査入院にて以下を施行
機能確認検査

- ・カプトプリル負荷試験 (50mg内服、1時間後採血)
- ・生理食塩水負荷試験 (2L/4hr, 心機能悪くなければ) →
- ・フロセミド立位負荷試験 (40mg静注、2時間立位後採血)

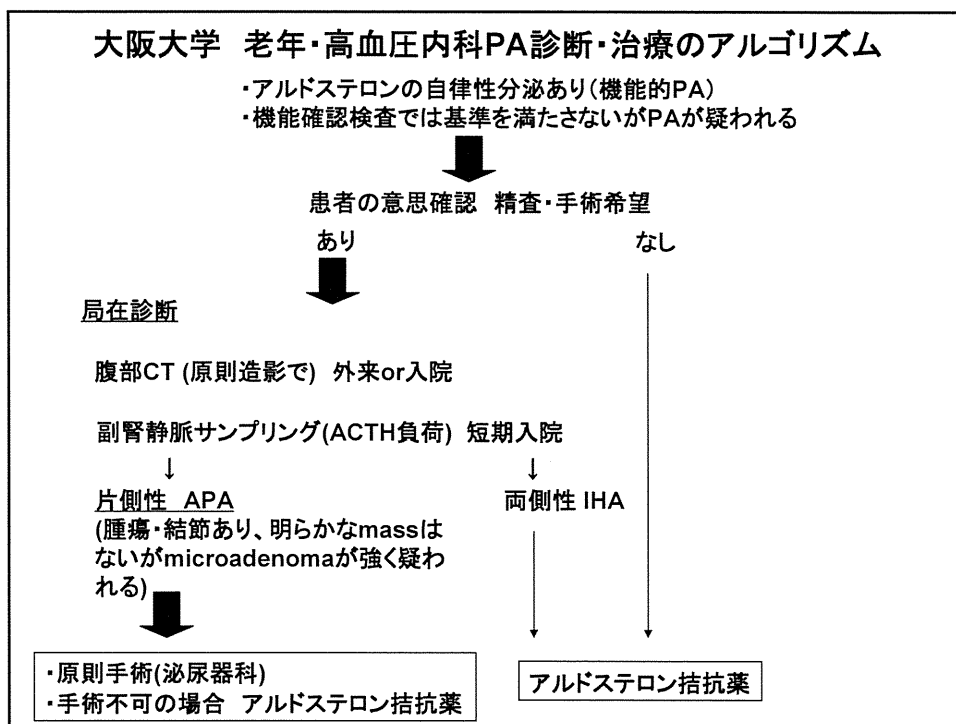
・陽性2/3でPA
・1/3以下ならPA
否定的
(他の検査所見と
合わせて判断)

サブクリニカルクッシング症候群のスクリーニング

→ デキサメサゾン1mg overnight 抑制試験

尿中電解質

尿中K排泄 → K排泄 \geq 30mEq PA疑



二次性高血圧 JSH2009

原発性アルドステロン症-機能確認検査

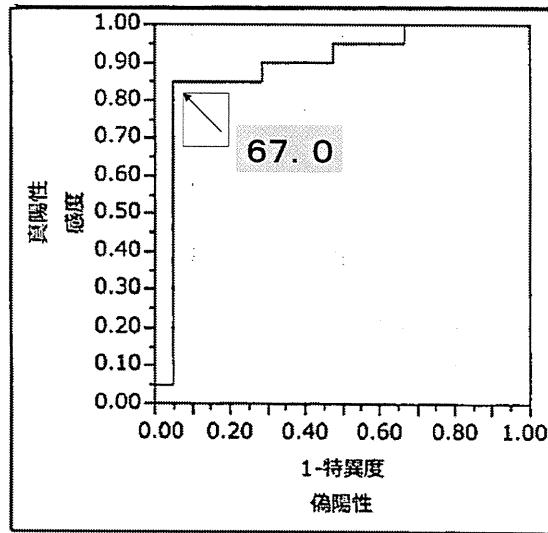
	方法 ^{*1}	陽性判定基準 ^{*2}	副作用
カプトプリル 負荷試験	カプトプリル50mg (要粉砕)経口投与	ARR(60分または90分) ≥200(または≥350)* ³	血圧低下
フロセミド立位 負荷試験	フロセミド40mg静注 ・2時間立位	PRAm _{ax} ≤1.0(または2.0)ng/mL/h	起立性低血圧 血清K低下
生理食塩水 負荷試験	生食2L/4時間 点滴静注	PAC(4時間) ≥85(≥50-100)pg/mL 60	血圧上昇, 血清K低下 心・腎機能低下例は 実施しない

*1 原則として検査当日朝の降圧薬を休薬し、早朝から午前9時、空腹、約30分の安静臥床後に実施 JSH: 少なくとも1つ以上の検査実施

*2 感度, 特異度は報告により60-90%と異なる

*3 PAC単位: pg/mLで計算 JES: 2種以上の検査を施行

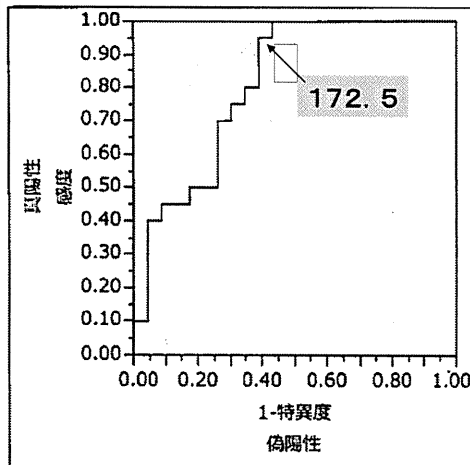
当科における生理食塩水負荷試験ROC曲線



morethan2='1'を陽性としています。

曲線の下面積=0.89048

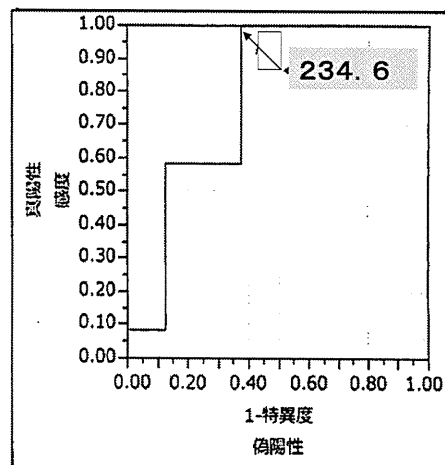
当科におけるカプトプリル負荷試験ROC曲線



morethan2='1'を陽性としています。

曲線の下面積=0.80870

負荷後60分

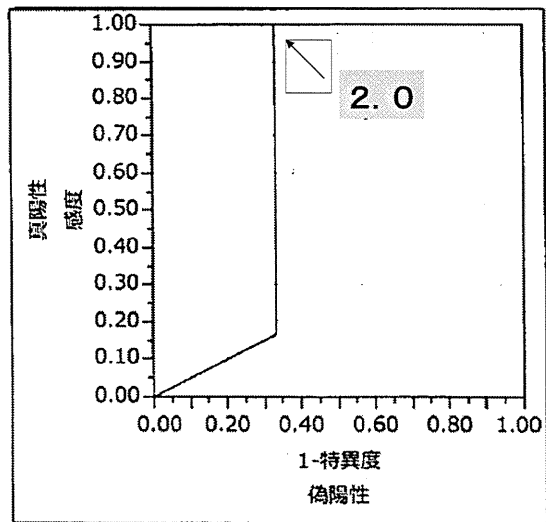


morethan2='1'を陽性としています。

曲線の下面積=0.78125

負荷後90分

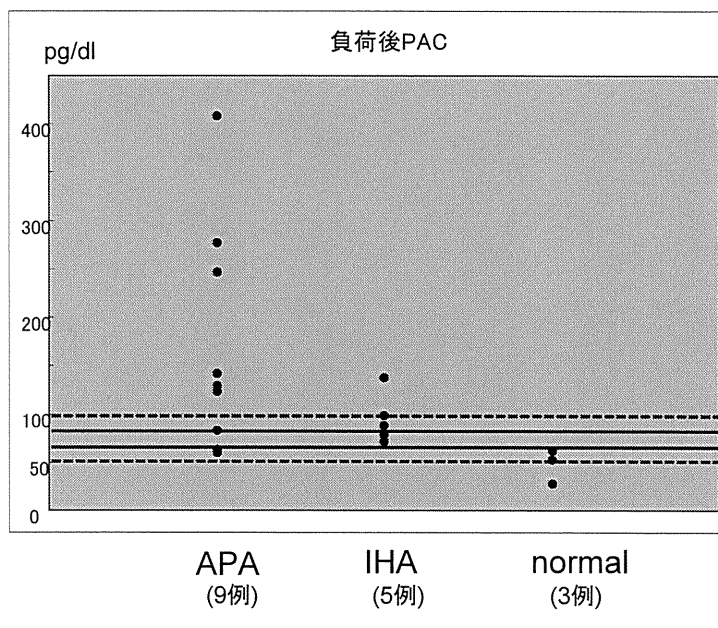
当科におけるフロセミド立位負荷試験ROC曲線



morethan2='1'を陽性としています。

曲線の下面積 ← 0.69444

生食負荷を施行した17例の負荷後PAC



総 括

- PA高リスクの患者で精査を進める方針を取っている。
- 当科では機能確認検査を原則入院でカプトプリル負荷、フロセミド立位負荷、生食負荷の3種を行い、2/3以上陽性でPAと診断している。
- 3種の負荷試験の診断率は生食負荷、カプトプリル負荷、フロセミド立位負荷の順であった。また生食負荷ではAPA,IHAの病型診断もある程度可能と考えている。
- これらの負荷試験施行前には心機能・腎機能の評価なたびに血清Kモニターが欠かせない。フロセミド立位負荷では脱水、低血圧、ふらつき、転倒のリスクがあり注意を要する。

平成23年度厚生労働科学研究費
第2回PAゲノム班会議
平成23年12月23日(金)

PA

1. 国立病院機構における多施設共同臨床研究
2. 診断の現状と課題

国立病院機構京都医療センター
成瀬 光栄

PHAS-J

Primary Hyperaldosteronism in Japan

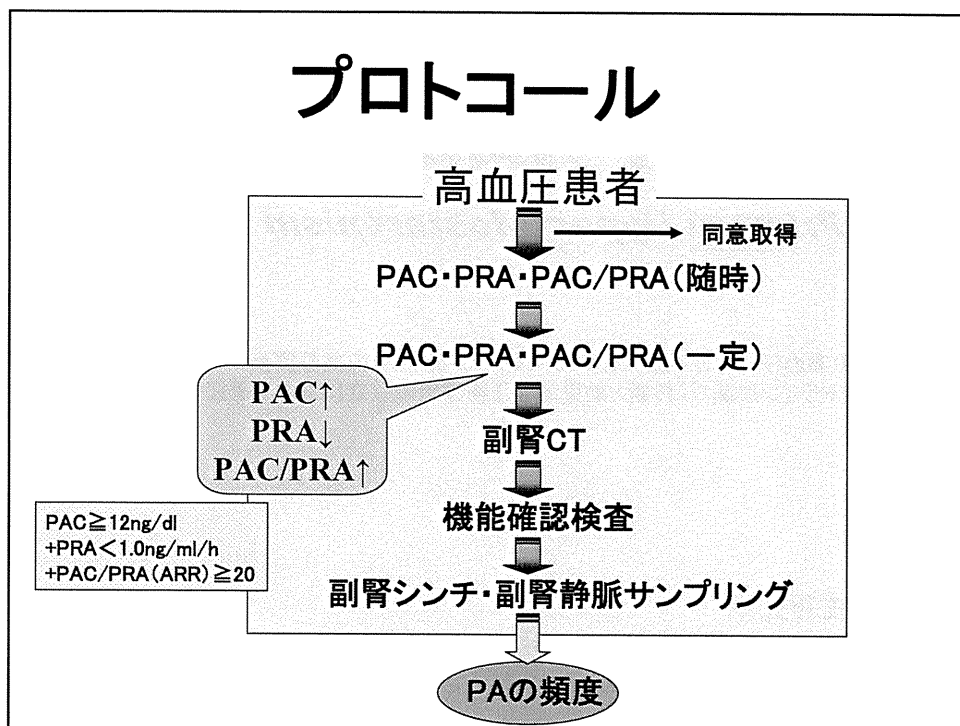
- ・わが国の高血圧における原発性アルドステロン症(PA)の実態調査研究(PHAS-J)
- ・学会ガイドラインに基づく診断と効果的な薬物療法の確立に関する研究(PHAS-J2)

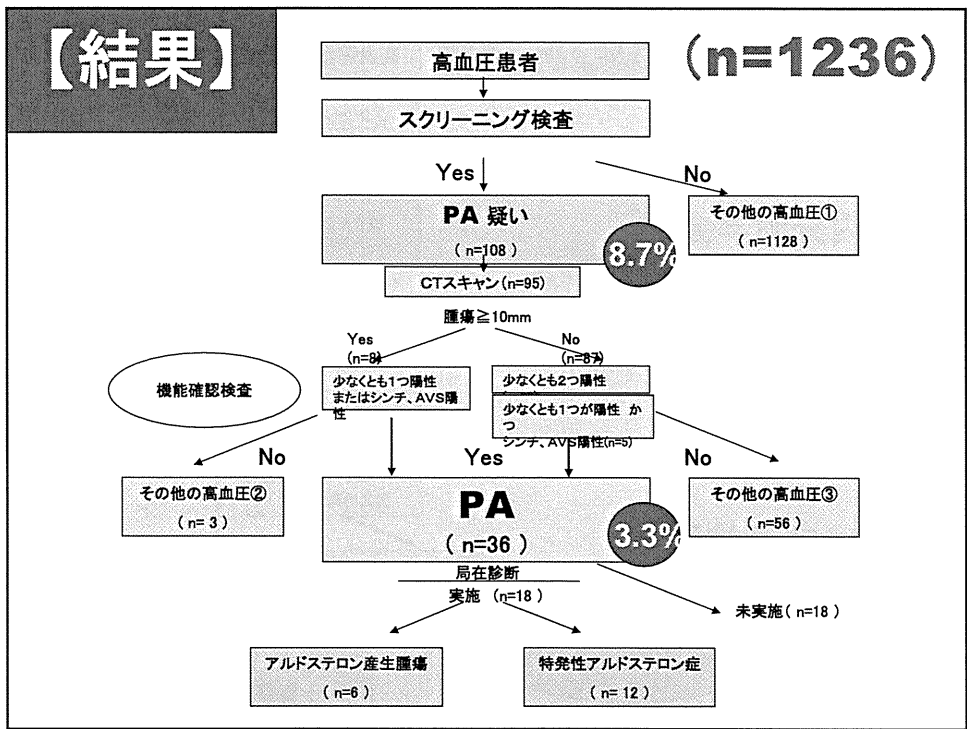
成瀬光栄
PHAS-J 研究班・PHAS-J2 研究班
NHO 京都医療センター内分泌代謝高血圧研究部

【目的】

わが国の高血圧患者における
PAの頻度を明らかにする。

プロトコール





PHAS-J2

学会ガイドラインに基づく原発性アルドステロン症の
診断と効果的な薬物治療法の確立 (PHAS-J2)

成瀬光栄・PHAS-J2 研究班 (NHOネットワーク共同研究)
NHO京都医療センター内分泌代謝高血圧研究部

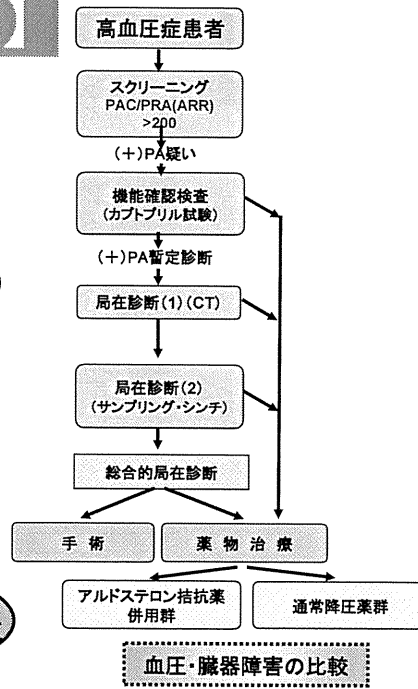
【目的・対象・方法】

日本高血圧学会
日本内分泌学会

Study 1
ガイドラインの適用率

アルドステロン拮抗薬
は必須か

Study 2
有効な薬物治療の確立



【中間結果】

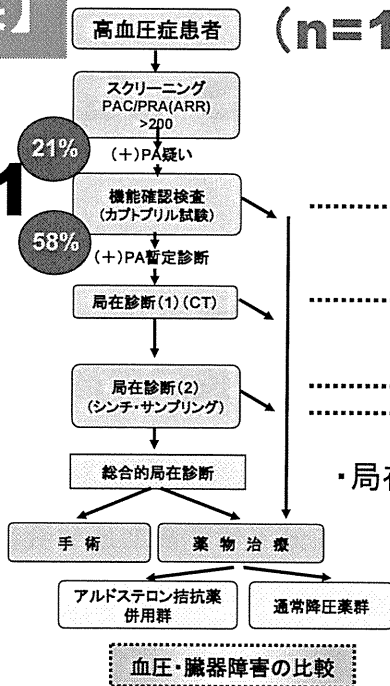
(n=1237)

Point 2

・ガイドライン適用率

Point 1

・PAの頻度
12.2%



・局在診断可能率

・診療水準向上
・ガイドライン改訂

PA診断の現状と今後

PA診療の5 STEP_s

1st step **スクリーニング対象？**

2nd step **スクリーニング方法？**

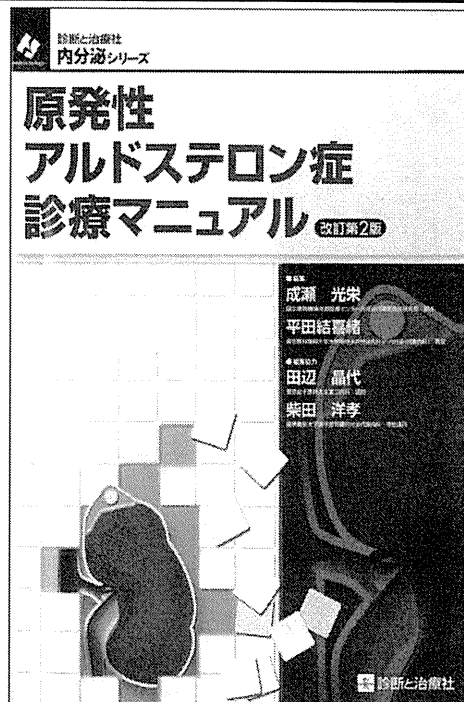
3rd step **機能確認検査？**

4th step **局在診断？**

5th step **治療？**

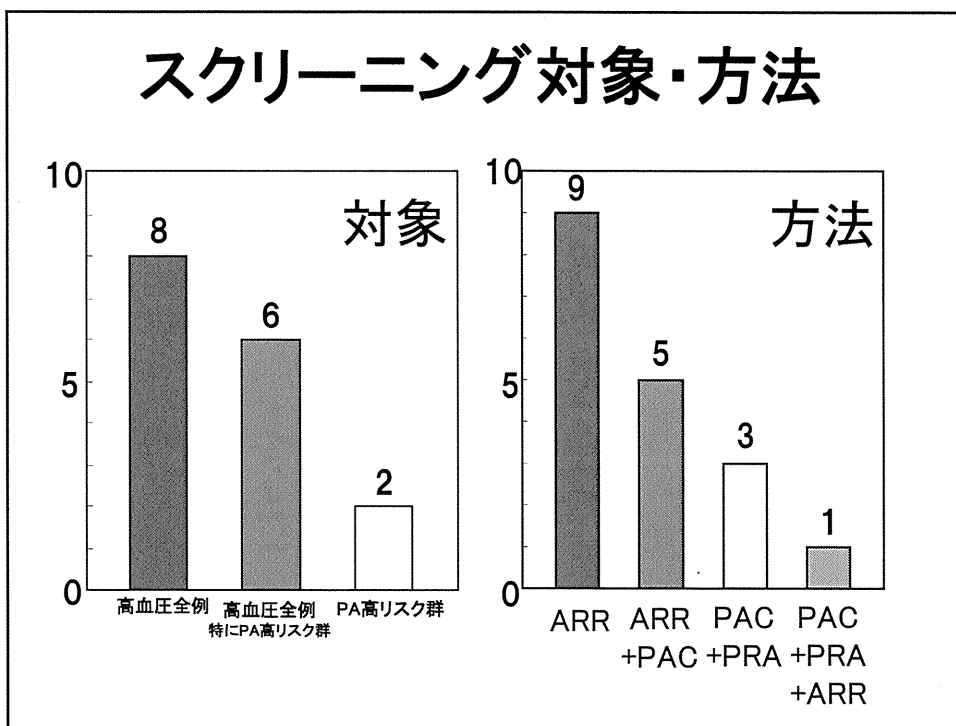
PA診断の現状、課題と今後への期待

	STEP	現状	課題	今後への期待
1	スクリーニング対象	・全高血圧 ・高リスク群	・コスト・ベネフィット ・個人と全体の利益	・検査費用の大幅↓ ・検査対象の限定
2	スクリーニング方法	・PRA, PAC ・ARR(200-400) ・ARR+PAC	・感度、特異度 ・普及度 ・カットオフ値	・最も優れた1検査
3	機能確認検査	・CAP・FU・SI・oral salt・Fludroc/salt、 ACTH	・検査の数、組み合わせ・実施方法 ・カットオフ値	・最も優れた1検査 Or 省略
4	局在診断法	・CT, ・シンチ ・AVS	・CTの特異性 ・AVSの適応 ・実施法・判定法	・非侵襲的診断法の開発(シンチなど)
5	治療法	・手術 ・薬物治療	・長期予後 ・微小腺腫の手術適応	・手術適応基準



日本高血圧学会
 日本内分泌学会
 米国内分泌学会
 Mayo Clinic
 金沢大学
 慶応大学
 聖マリアンナ医大
 横浜労災病院
 東京女子医大
 福井大学
 東京大学
 東京医科歯科大学
 京都大学
 京都医療センター
 大阪大学
 九州大学

スクリーニング対象・方法



機能確認検査の数・優先度

